

HIV és Hepatitisz C vírus specifikus nanotestek tervezése és előállítása orvos diagnosztikai célra

Design and production of HIV and Hepatitis C virus specific nanobodies for medical diagnostic

SCHAFFHAUZER Zsófia¹, DR. JANKOVICS Hajnalka¹

¹Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet, Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratórium, Magyarország, 8200 Veszprém, Egyetem utca 10., +36-88-624-000 / 6158, schaffhauzer.zsofia@phd.uni-pannon.hu, <http://bnl.richem.hu/index.php/hu/>

ABSTRACT

Nanobodies, or single-domain antibodies (sdAbs), are antibodies consisting of a single polypeptide chain, thus can be produced as recombinant proteins in bacteria. Therefore, their production is simple and economically efficient. Moreover, they can be modified relatively easily using genetic engineering methods. In the course of our work, we aimed to produce single-domain antibodies specific for two virus types (HIV, Hepatitis C). The nanobody coding DNA sequences were incorporated into protein expression vectors that fused an oligo-histidine peptide to one terminal of the protein, which supports protein purification by Ni-affinity chromatography. We aimed to optimize parameters (time, temperature, inductor concentration) that allow the production of the nanobodies with high yield and in a functional form. In addition, the immobilization of nanobodies on a solid support can be performed also through the oligo-His-tag which makes it suitable for testing their usability in diagnostic applications for selectively targeting viruses.

Keywords: nanobody, single-domain antibody, HIV, Hepatitis C, Ni-affinity chromatography

ÖSSZEFOGLALÓ

A nanotestek, vagy egydoménes antitestek (sdAbs), olyan egy polipeptid láncból álló antitestek, melyek rekombináns fehérjeként baktériumban is termeltethetők, így egyszerűen és gazdaságosan állíthatók elő, valamint génszabású módszerekkel viszonylag könnyen módosíthatók. Munkánk során két vírus típusra (HIV, Hepatitisz C) specifikus egydoménes antitest előállítását tűztük ki célul. Ezen nanotesteket kódoló DNS-eket, olyan fehérje expressziós vektorokba építettük be, melyek a protein valamelyik végére oligo-hisztidin peptidet fuzionáltak, ami lehetővé teszi a fehérje Ni-affinitás kromatográfiás módszerrel való tisztítását. Célul tűztük ki megtalálni azokat a paramétereket (idő, hőmérséklet, induktor koncentráció), amelyek segítségével a legnagyobb mennyiségben, funkcióképes formában lehetséges ezen vírus specifikus nanotestek előállítása. A His-tag véget tartalmazó nanotestek, a tisztításban betöltött szerepe mellett, szilárd hordozóra történő rögzítése az alkalmazhatóságuk tesztelése során is hasznosnak bizonyulhat, ahol a vírusok szelektív kifogásával, újfajta diagnosztikai és terápiás módszerek kidolgozására van lehetőség.

Kulcsszavak: nanotest, egydoménes antitest, HIV, Hepatitisz C, Ni-affinitás kromatográfia